



## Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur *Trichoderma reesei*

Sri Sukadarti, Siti Diyar Kholisoh, Heri Prasetyo,  
Wasis Pujo Santoso, dan Tri Mursini

Program Studi Teknik Kimia, FTI, UPN “Veteran” Yogyakarta  
Jl. SWK 104 (Lingkar Utara), Condong Catur, Yogyakarta 55283

E-mail: [sukadartisri@yahoo.com](mailto:sukadartisri@yahoo.com), [diyar\\_khch@yahoo.co.id](mailto:diyar_khch@yahoo.co.id), [her\\_0312@yahoo.com](mailto:her_0312@yahoo.com),  
[joesantoz@gmail.com](mailto:joesantoz@gmail.com), dan [treemursini@yahoo.com](mailto:treemursini@yahoo.com)

### Abstract

Bioethanol can be produced from materials that contain reducing sugars. Nowadays biomass is the raw material that is being extensively studied for producing the sugar. Coconut fiber is one kind of biomass that is quite abundantly available in Indonesia and not widely utilized so far. This study was aimed to obtain the optimum condition for enzymatic hydrolysis of coconut fiber into reducing sugar by *Trichoderma reesei* mold and its kinetics model.

This experiment was initially conducted through a sequence of coconut fiber pretreatments that comprised cutting off, delignification in NaOH solution, addition-by-nutrients, and sterilization. Inoculum was prepared by growing mold in *Czapek* medium. Fermentation process was performed in Erlenmeyer flasks on a shaker at room temperature by varying fiber concentration (5, 10, and 15 g/ml), inoculum concentration (3, 4, 5, and 6 g/ml), and initial pH (4, 4.5, 5, and 5.5). Based on the amount of reducing sugar yielded, the optimum process condition could be determined. Kinetics model under these specified conditions therefore was postulated.

This study concluded that coconut fiber could be hydrolyzed into reducing sugar through enzymatic hydrolysis by *Trichoderma reesei*. The optimum condition was obtained at fiber concentration of 5 g/ml, inoculum concentration of 5 g/ml, and initial pH of 5, with reducing sugar concentration of 0.8 g/ml. The kinetics model fitted to an empirical expression:  $P_t/S_0 = 1 - \exp[-0.000721(t)^{0.9845}]$ .  $P_t$ ,  $S_0$ , and  $t$  denote the sugar concentration at any time  $t$  (g/ml), initial substrate concentration (g/ml), and fermentation time (hours), respectively.

**Key words:** Coconut fiber, enzymatic hydrolysis, reducing sugar, *Trichoderma reesei*

### Pendahuluan

Krisis energi fosil dunia saat ini mendorong para ilmuwan untuk menemukan energi alternatif yang terbarukan, salah satunya yang sedang diteliti dan dikembangkan adalah gasohol, yaitu campuran alkohol 99,9% dengan gasolin. Industri alkohol di Indonesia maupun di negara-negara lainnya umumnya berbahan baku tetes tebu, pati singkong, atau pati yang lain. Karena kegunaan bahan baku tersebut cukup banyak, maka harga tetes tebu maupun pati menjadi tinggi dan harga alkohol yang dihasilkan pun tinggi. Agar diperoleh harga alkohol yang lebih murah, perlu dicari bahan pembuat alkohol yang lebih murah.

Semua bahan yang mengandung gula dapat digunakan sebagai bahan pembuat alkohol. Salah satu alternatif bahan yang dapat dijadikan penyedia gula adalah selulosa. Selulosa merupakan polimer dari 1-4-beta-D glukosa, sehingga jika rantai dari polimer tersebut dipotong-potong maka akan dihasilkan glukosa. Pemotongan rantai polimer dapat dilakukan secara kimia maupun enzimatik. Pemotongan secara kimia dapat dilakukan dengan cara menghidrolisis

selulosa tersebut dengan asam pada kondisi tekanan lebih besar dari 1 atm dan suhu di atas 200°C. Hasil penelitian Qian Xiang (2003) menunjukkan bahwa hidrolisis selulosa menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% pada suhu 215°C menghasilkan konversi 50%. Pada hidrolisis menggunakan asam, diperoleh hasil samping berupa furfural. Hidrolisis serat tanpa asam dapat dilakukan dengan cepat menggunakan air superkritik pada suhu 350°C dengan tekanan 25 MPa (Sasaki, 2000). Hidrolisis selulosa secara enzimatik dapat dilakukan dengan enzim selulase yang dihasilkan oleh mikrobial seperti fungi (jamur), bakteri, dan protozoa. Hidrolisis secara enzimatik ini dapat dilakukan pada suhu kamar namun memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan hidrolisis kimiawi. Hidrolisis batang gandum dengan enzim komersial *Celluclast* 1.5 L dan *Novozyme* 188 pada suhu 40°C menghasilkan 42,6 gram glukosa dan 22 gram xylosa untuk setiap 100 gram batang gandum (Jakobson). Meskipun *yield* yang diperoleh cukup tinggi, tetapi harga enzim selulase komersial masih cukup mahal.

Hidrolisis serat secara enzimatik juga dapat dilakukan dengan menumbuhkan mikrobia pada serat yang akan didegradasi. Enzim selulase yang dikeluarkan oleh mikrobia tersebut akan mendegradasi selulosa menjadi gula. Enzim selulase komersial yang diproduksi pada umumnya dihasilkan oleh jamur *Aspergillus* dan *Trichoderma* (Wang). Indonesia merupakan negara agraris yang banyak menghasilkan limbah pertanian yang berupa biomassa dan belum dimanfaatkan secara optimal, seperti sabut kelapa. Penelitian ini mencoba membuat gula reduksi dari sabut kelapa secara enzimatik dengan bantuan jamur *Trichoderma reesei*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi proses yang terbaik, dengan memvariasikan pH awal, konsentrasi substrat, dan konsentrasi inokulum, serta mendapatkan model persamaan kinetika reaksinya.

### Tinjauan Pustaka

**Sabut Kelapa.** Sabut kelapa merupakan bagian terbesar ( $\pm 35\%$ ) dari bobot buah kelapa. Jika produksi buah kelapa di Indonesia mencapai 3.250.000 ton/ tahun maka akan dihasilkan sabut kelapa sebanyak 1.137.500 ton/ tahun. Serat sabut kelapa dikenal sebagai *coco fiber*, *coir fiber*, *coir yarn*, dan *rugs*. Pemanfaatan sabut kelapa masih sebatas untuk kerajinan, seperti tali, keset, sapu, matras, bahan isian jok mobil, dan lain-lain.

Sabut kelapa (eksokarp) terdiri dari bagian luar (epikarp) yang tahan air dan bagian dalam (mesokarp). Mesokarp terdiri dari untaian serat vaskuler yang disebut *coir* yang melekat pada jaringan parenkimatis (gabus). Komposisi kimia sabut kelapa secara umum disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1. Komposisi Kimia Sabut Kelapa**

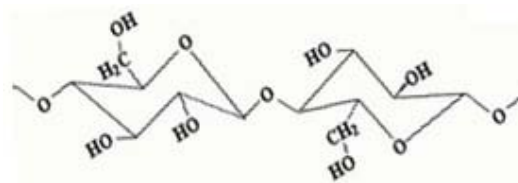
Komponen	Komposisi (%)
- Air terlarut	5,25
- Pektin	3,00
- Hemiselulosa	0,25
- Lignin	45,84
- Selulosa	43,44
- Abu	2,22

Sumber: [www.hayleys-export.com/about-coir-fibre](http://www.hayleys-export.com/about-coir-fibre)

Sifat-sifat fisis sabut kelapa antara lain: densitas = 1,4 g/cc dan kadar *swelling* dalam air = 6-8,5%. Sabut kelapa berpotensi untuk dijadikan bahan baku penghasil gula karena kandungan seratnya yang cukup tinggi, jumlahnya cukup banyak, dan harganya murah.

**Lignoselulosa.** Serat selulosa merupakan rantai lurus polimer dari 1-4- $\beta$ -D-glukosa dan merupakan komponen terbesar pada dinding sel tanaman. Keberadaannya pada dinding sel tanaman bersama-sama dengan hemiselulosa dan lignin. Oleh karena itu, serat tanaman biasa disebut dengan lignoselulosa. Selulosa terdiri dari 7000-15000 molekul glukosa

*anhydrous* (Wikipedia). Selulosa bersifat tidak larut dalam air, asam, maupun basa pada suhu kamar. Struktur selulosa terdiri dari 60-70% kristalin dan 30-40% *amorphous*, sehingga tidak mudah dihidrolisis (Kirk-Othmer, 1952). Rumus struktur selulosa tersaji pada Gambar 1.



**Gambar 1. Rumus struktur selulosa**

Hemiselulosa merupakan *heteropolymers* (*matrix polysaccharides*) yang berisi 200 monomer gula. Hemiselulosa berada bersama-sama dengan selulosa pada dinding sel, dan keduanya diikat oleh pektin. Strukturnya yang terbesar adalah *amorphous* dan sebagian kecil berupa kristalin. Hemiselulosa mudah dihidrolisis dengan asam encer, basa, atau enzim. Hemiselulosa mengandung beberapa monomer gula yaitu: xylosa, mannososa, galaktosa, rhamnososa, arabinososa, dan glukosa. Xylosa merupakan gula yang paling banyak terkandung dalam hemiselulosa.

Lignin merupakan polimer kompleks dari fenil propana dan mudah didegradasi oleh asam, basa, maupun enzim lignolitik. Enzim yang dapat mendegradasi lignin adalah *mangan peroxidase*, *lignin peroxidase*, dan *cellobiose dehydrogenase*.

***Trichoderma reesei*.** *Trichoderma reesei* merupakan jamur berfilamen yang bersifat mesofilik, tidak patogen, mempunyai kemampuan menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xylosa, dan banyak digunakan untuk memproduksi enzim selulase dengan biaya murah ([www.nysaes.cornell.edu](http://www.nysaes.cornell.edu)). Menurut Hairong Xiong (2004), enzim selulase komersial yang diproduksi dari *Trichoderma reesei* merupakan campuran dari enzim-enzim: minimal 4 *endo-1,4- $\beta$ -xylanase*, minimal 5 *endo-1-4-D- $\beta$ -glucanase*, dua *exo-cellobiohydrolase*, dua *glucan 1,4- $\beta$ -glucosidase* dan *exo-1,4- $\beta$ -glucosidase*, serta beberapa enzim  *$\beta$ -mannanase*,  *$\beta$ -mannosidase*,  *$\alpha$ -L-arabinofuranosidase*,  *$\alpha$ -galactosidase*, *acetylxylnesterase*, dan *laccase*. Enzim-enzim tersebut bekerja secara bersinergi di dalam menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa. Kemampuan *Trichoderma reesei* memproduksi enzim dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhannya, seperti: pH, suhu, pengadukan, dan aerasi.

**Hidrolisis Lignoselulosa.** Hidrolisis selulosa dan hemiselulosa dapat dilakukan secara kimiawi maupun

secara enzimatik menghasilkan monomer gula reduksi glukosa dan xylosa.

### 1. Hidrolisis Secara Kimia

Degradasi selulosa secara kimiawi dapat dilakukan melalui proses hidrolisis dengan katalisator asam. Mekanisme reaksi yang terjadi melalui beberapa tahap (Qian Xiang, 2003), yaitu:

- (a) Proton dari asam berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosida. Oksigen yang menghubungkan dua molekul glukosa dan membentuk suatu asam konjugat.
- (b) Pemotongan ikatan C-O dan pemecahan asam konjugat menjadi cincin ion karbonium.
- (c) Penambahan  $H_2O$  akan melepaskan molekul glukosa dan proton.

Hidrolisis selulosa dengan katalis asam sulfat dibedakan menjadi dua cara (*Oregon cellulose-ethanol study*), yaitu:

- (a) Dengan  $H_2SO_4$  encer (kadar 1%): pada  $215^\circ C$  dan tekanan  $> 1$  atm dengan waktu beberapa menit, menghasilkan konversi sekitar 50% dengan hasil samping berupa furfural.
- (b) Dengan  $H_2SO_4$  pekat (kadar 70%): pada  $100^\circ F$  dan tekanan rendah selama 2- 6 jam, berpotensi menghasilkan konversi sebesar 90%.

Kelemahan proses hidrolisis secara kimia adalah: membutuhkan energi yang cukup besar, menghasilkan hasil samping berupa furfural, membutuhkan proses netralisasi, dan membutuhkan peralatan yang tahan korosi.

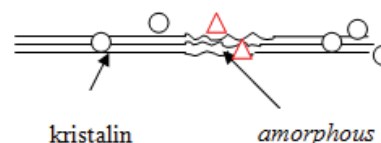
### 2. Hidrolisis Secara Enzimatik

Lignoselulosa juga dapat didegradasi oleh enzim selulase menjadi glukosa dan xylosa. Enzim selulase dapat diproduksi oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Jamur dengan genus *Trichoderma* dan *Aspergillus* merupakan mikroorganisme terpopuler sebagai penghasil enzim selulase komersial (Peig et al, 1998).

Ada tiga enzim yang berperan di dalam perombakan selulosa menjadi glukosa, yaitu: (a) Enzim endoglukanase, berfungsi memotong rantai glukosa yang panjang menjadi rantai yang lebih pendek secara acak, (b) Enzim *cellobiohydrolase*, berfungsi memotong setiap dua rantai glukosa (selobiosa), dimulai dari rantai nomor satu (rantai terakhir) glukosa, dan (c) Enzim  $\beta$ -glukosidase, berfungsi memotong selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa.

Produk dari pemecahan selulosa oleh enzim endoglukanase menjadi substrat bagi enzim *cellobiohydrolase*, dan produk hasil pemecahan enzim *cellobiohydrolase*, yaitu selobiosa, menjadi substrat bagi enzim  $\beta$ -glukosidase. Mekanisme degradasi lignoselulosa oleh enzim endoglukanase dan enzim *cellobiohydrolase* ditunjukkan pada Gambar 2.

Keberhasilan hidrolisis selulosa menggunakan enzim atau mikrobial sangat ditentukan oleh: derajat kristalin selulosa, komposisi enzim selulase, luas permukaan kontak, rasio antara inokulum dengan substrat, dan kemurnian substrat. Menurut Sarkar (2004), lignoselulosa dengan derajat kristalin tinggi lebih sulit untuk didegradasi dibandingkan struktur *amorphous*. Penggilingan selulosa dapat menaikkan laju degradasi karena menurunkan derajat kristalin dan memperluas permukaan kontak selulosa-enzim.



O = cellobiohydrolase;  $\Delta$  = endoglukanase

**Gambar 2. Mekanisme degradasi lignoselulosa oleh enzim endoglukanase dan enzim cellobiohydrolase**

Komposisi enzim selulase atau enzim yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* sangat berpengaruh terhadap laju degradasi selulosa; sedangkan komposisinya dipengaruhi oleh kondisi seperti pH, pengadukan, dan aerasi. Pada pH mendekati 4, *Trichoderma reesei* cenderung memproduksi selulase dan pada pH 7 cenderung memproduksi xylanase. Pengadukan optimum untuk pertumbuhan *Trichoderma reesei* adalah 200 rpm dan aerasi yang baik didapat pada kisaran 0,5-1 vvm (volume udara per volume medium per menit) (Hairong, 2004).

Hidrolisis lignoselulosa oleh enzim selulase dihambat oleh terbentuknya selobiosa dan glukosa. Selobiosa menghambat kerja enzim *cellobiohydrolase* dan glukosa akan menghambat kerja enzim  $\beta$ -glukosidase. Daya hambat dari produk sangat dipengaruhi oleh rasio antara konsentrasi enzim dengan konsentrasi substratnya (Sarkar, 2004).

Keberadaan lignin dalam substrat akan menurunkan laju degradasi selulosa, karena lignin dapat mengadsorpsi enzim selulase sehingga akan mengurangi jumlah enzim yang diadsorpsi oleh selulosa dan hemiselulosa. Proses delignifikasi dapat dilakukan dengan melarutkan lignin dalam asam, basa, senyawa organik, enzim lignolitik. Pemanasan dapat menguraikan lignin menjadi senyawa-senyawa aromatik yang menjadi inhibitor bagi kerja enzim selulase.

**Persamaan Empirik Model Kinetika Reaksi Enzimatik.** Enzim yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* terdiri dari banyak enzim yang secara sinergi merombak selulosa menjadi gula reduksi secara bertahap dan reaksinya kompleks. Oleh karena itu, model persamaan kinetika reaksinya tidak dapat didekati dengan model Michaelis-Menten. Menurut J.

N. Etters (1980), model kinetika reaksi hidrolisis enzimatis *cotton fibers* menggunakan jamur *Trichoderma reesei* mempunyai bentuk empirik:

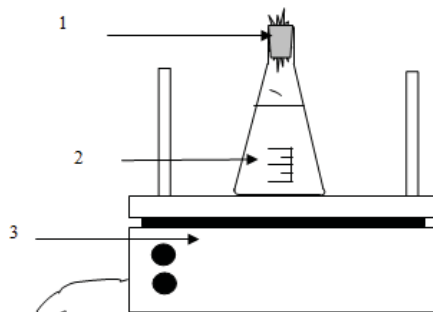
$$\frac{P_t}{S_0} = [1 - \exp \{-k(t)^x\}]^{1/y} \quad \dots (1)$$

dengan:  $P_t$  = konsentrasi produk (g/ml),  $S_0$  = konsentrasi awal substrat (g/ml),  $k$  = konstanta kecepatan reaksi,  $x$  = tahanan hidrolisis, dan  $y$  = konstanta Etters. Hidrolisis enzimatis *cotton fibers* menggunakan jamur *Trichoderma reesei* memiliki nilai  $y = 1$ .

### Pelaksanaan Penelitian

**Bahan.** Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: sabut kelapa yang dipotong-potong sehingga lolos ayakan 50 mesh dan dianalisis kandungan air, selulosa, hemiselulosa, dan ligninnya, serta biakan murni jamur *Trichoderma reesei*. Bahan-bahan pembantu yang digunakan meliputi: NaOH,  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $NaNO_3$ ,  $KH_2P_3O_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl, reagensia Nelson, karboksimetilselulosa (CMC), arsenomolibdat, *aquadest*, gula pasir, dan larutan *buffer* asetat.

**Alat.** Alat utama untuk proses fermentasi dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 3. Selain itu, digunakan alat-alat pendukung berupa timbangan, jarum ose, pHmeter, pembakar spiritus, cawan petri, pipet gondok, pipet lurus, gelas ukur, labu Erlenmeyer, *shaker*, *autoclave*, selang plastik, gelas piala, karet sumbat, *Spectronic-20*, dan lemari enten.



Keterangan: 1-Penyumbat kapas, 2-Larutan sampel, 3-Shaker

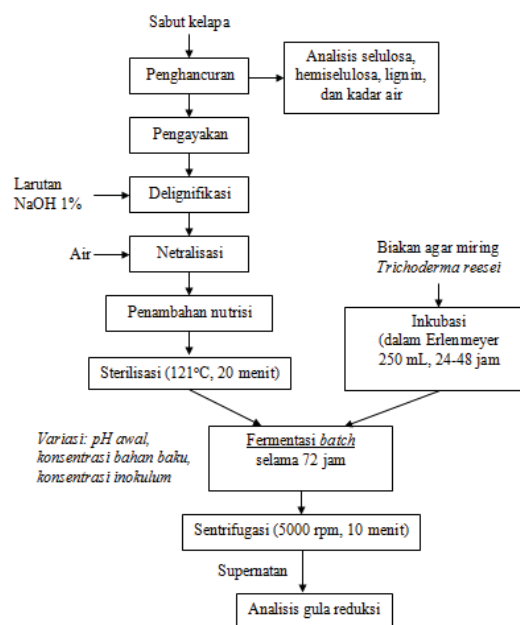
Gambar 3. Rangkaian alat fermentasi

**Cara Penelitian.** Sabut kelapa kering dibersihkan dari gabusnya, kemudian dipotong-potong sampai lolos ayakan 50 mesh. Sabut kelapa dengan berat yang divariasikan 5, 10 dan 15 gram dicampurkan dengan larutan NaOH 1 % dengan perbandingan 1:10 (g/mL), diaduk selama 2 jam untuk menghilangkan ligninnya, kemudian dicuci sampai air cucianya

netral. Sabut dengan variabel berat tertentu ditambahkan nutrisi berupa  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , dan  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  yang dilarutkan dalam aquades hingga volume 100 ml. Selanjutnya disterilkan pada suhu 121 °C selama 20 menit di dalam *autoclave*. Inokulum dibuat dengan cara menginokulasikan biakan murni *Trichoderma reesei* ke dalam 100 ml media *Czapek* yang telah ditambahkan larutan *buffer* asetat, kemudian di-*shaker* selama 24 jam.

Proses fermentasi dilakukan dengan menginokulasikan inokulum (dengan variabel konsentrasi tertentu) secara aseptik ke dalam substrat dan nutrisi yang steril. Fermentasi dilakukan dalam labu Erlenmeyer 250 ml yang ditutup dengan kapas dan di-*shaker* selama 72 jam.

Penentuan gula reduksi hasil fermentasi dilakukan dengan mengambil sejumlah sampel cairan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit, dan supernatannya diambil untuk dianalisis gula reduksinya. Kadar gula reduksi ditentukan dengan metode *Nelson-Somogyi*. Penentuan kinetika reaksi selanjutnya dilakukan melalui percobaan yang serupa, pada kondisi optimumnya. Tahap-tahap percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk diagram alir pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir penelitian

### Hasil dan Pembahasan

Sabut kelapa yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, dan air masing-masing sebesar 47,88, 10,92, 29,11, dan 12,02 % (-berat).



Berdasarkan percobaan pendahuluan, diketahui bahwa proses fermentasi dengan jamur *Trichoderma reesei* menunjukkan kinerja yang lebih baik pada penggunaan aerasi terbatas (menggunakan *shaker*) dibandingkan dengan aerasi dengan pengaliran udara steril secara langsung. Kinerja ini ditunjukkan oleh besarnya konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena aliran udara secara langsung memberikan jumlah O<sub>2</sub> yang berlebihan ke dalam medium fermentasi, sehingga cenderung mengkondisikan jamur untuk melakukan perkembangbiakan atau pertumbuhan sel. Kondisi ini mengakibatkan produksi enzim selulase oleh jamur justru akan terhambat. Dalam hal ini, pengaturan laju alir udara ke dalam proses fermentasi memegang peranan yang sangat penting supaya selektivitasnya lebih mengarah kepada produksi enzim selulase.

**Pengaruh pH Awal terhadap Konsentrasi Gula Reduksi.** Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan selama proses fermentasi dan diukur pada berbagai variasi pH awal dan konsentrasi inokulum disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Pengaruh pH Awal terhadap Konsentrasi Gula Reduksi pada Berbagai Konsentrasi Inokulum (Konsentrasi Sabut = 5 g/ml)**

pH Awal	Konsentrasi Gula Reduksi (g/ml)			
	Konsentrasi Inokulum (g/ml)			
	3	4	5	6
4	0,1928	0,0344	0,2825	0,1347
4,5	0,0054	0,0016	0,1294	0,2773
5	0,1611	0,1294	0,7999	0,5095
5,5	0,0018	0,0020	0,4567	0,0016

Berdasarkan Tabel 2, teramati bahwa gula reduksi yang dihasilkan pada pH awal 5 mempunyai konsentrasi tertinggi dibandingkan dengan pH awal yang lain. Hal ini disebabkan oleh terjadinya kesetimbangan muatan enzim, sehingga daya katalisis enzim optimum. Enzim yang merupakan gugus polipeptida (protein) dan bersifat katalitik mempunyai sifat seperti asam amino, yaitu mempunyai gugus aktif yang bermuatan positif (+) dan negatif (-). Kesetimbangan antara kedua muatannya (isoelektrik) akan mengakibatkan protein mengendap sehingga aktivitas enzim akan berkurang. Setiap protein enzim mempunyai titik kesetimbangan yang berbeda. Muatan enzim akan cenderung positif pada keadaan asam dan negatif pada keadaan basa muatannya cenderung negatif, sehingga struktur enzim mengalami perubahan dan aktivitasnya menjadi berkurang atau bahkan menjadi tidak aktif. Dengan demikian, tingkat keasaman (pH) dapat mempengaruhi aktivitas enzim dalam mendegradasi substrat. Dalam penelitian ini, pH awal 5 digunakan untuk proses dengan variabel selanjutnya.

**Pengaruh Konsentrasi Sabut Kelapa terhadap Konsentrasi Gula Reduksi.** Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan selama proses fermentasi dan diukur pada berbagai variasi konsentrasi sabut kelapa dan konsentrasi inokulum disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Sabut Kelapa terhadap Konsentrasi Gula Reduksi pada Berbagai Konsentrasi Inokulum (pH Awal = 5)**

Konsentrasi Sabut Kelapa (g/ml)	Konsentrasi Gula Reduksi (g/ml)			
	Konsentrasi Inokulum (g/ml)			
	3	4	5	6
5	0,1611	0,0018	0,7999	0,2825
10	0,0028	0,1850	0,0065	0,0039
15	0,0048	0,0137	0,0058	0,0074

Dari Tabel 3, terlihat bahwa konsentrasi gula reduksi yang tertinggi dicapai pada konsentrasi sabut 5 g/ml, pada berbagai variasi konsentrasi inokulum (3, 4, 5, dan 6 g/ml). Konsentrasi gula reduksi tertinggi, yaitu 0,7999 ( $\approx$  0,8) g/ml, diperoleh pada konsentrasi sabut kelapa 5 g/ml dan konsentrasi inokulum 5 g/ml.

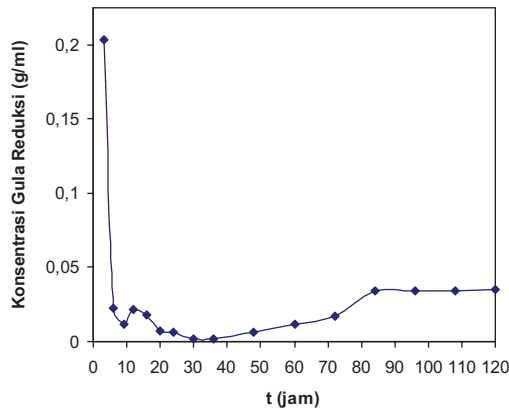
Setiap enzim bekerja secara unik menurut prinsip *lock-and-key* yang saling berpasangan. Substrat yang berperan sebagai *key* masuk ke dalam sisi aktif enzim yang berperan sebagai *lock*, sehingga terbentuk 'kompleks enzim-substrat (ES)' yang bersifat tidak stabil. Pada kondisi yang sesuai, ketidakstabilan ini akan cenderung mengarahkan ES untuk berubah bentuk menjadi kompleks enzim-produk. Pada saat ikatan kompleks enzim-produk terputus, produk reaksi akan dilepaskan dan enzim akan kembali ke konfigurasi semula. Perbandingan antara konsentrasi enzim dan substrat yang tidak sesuai akan mengakibatkan adanya enzim ataupun substrat yang tidak memperoleh 'pasangan'. Hal ini sangat dimungkinkan karena tidak adanya pengadukan, sehingga kontak antara substrat dan enzim kurang baik.

Kondisi optimum percobaan (yaitu pH awal 5, konsentrasi sabut kelapa 5 g/ml, dan konsentrasi inokulum 5 g/ml) selanjutnya digunakan untuk meninjau kinetika hidrolisis substrat menjadi gula reduksi secara enzimatik.

**Profil Konsentrasi Gula Reduksi terhadap Waktu Pengamatan (Secara Batch).** Profil konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan terhadap waktu pengamatan secara *batch* hingga 120 jam fermentasi disajikan pada Gambar 5.

Dalam pertumbuhannya, jamur *Trichoderma reesei* membutuhkan gula sebagai sumber nutrisi sebelum jamur tersebut menghidrolisis substrat menjadi gula reduksi melalui enzim selulase yang dihasilkannya. Gambar 5 memperlihatkan profil konsentrasi gula reduksi dari awal hingga akhir fermentasi. Konsentrasi gula reduksi yang tinggi di awal fermentasi menunjukkan glukosa awal yang

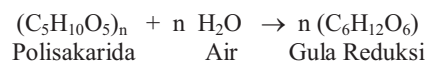
ditambahkan sebagai nutrisi jamur, dan mengalami penurunan sampai habis. Keberadaan aktivitas enzim selulase ditunjukkan pada saat kurva mulai naik, dari keadaan terendahnya (jam ke-30) yang mengindikasikan bahwa glukosa awal telah habis.



**Gambar 5. Profil konsentrasi gula reduksi terhadap waktu (pada: pH Awal = 5, Konsentrasi Sabut Kelapa = 5 g/ml, dan Konsentrasi Inokulum = 5 g/ml)**

Setelah jam ke-30, konsentrasi gula reduksi mulai meningkat. Keadaan ini menunjukkan bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur telah memperlihatkan daya katalitiknya untuk mengubah selulosa menjadi gula reduksi. Keadaan ini selanjutnya menjadi “titik awal (waktu ke-0)” untuk menentukan kinetika reaksinya.

**Model Kinetika Reaksi Hidrolisis Selulosa dalam Sabut Kelapa menjadi Gula Reduksi secara Enzimatik dengan Jamur *Trichoderma reesei*.** Secara stoikiometri, reaksi hidrolisis polisakarida menjadi gula reduksi dapat dituliskan sbb.:



Serat tumbuhan mempunyai n unit substrat yang berkisar pada 800 - 10.000 unit. Dengan mengambil nilai tengah, yaitu  $n \approx 5.400$  unit, maka profil konsentrasi substrat (selulosa dalam sabut kelapa) dan konsentrasi produk (gula reduksi) terhadap waktu tersaji pada Tabel 4.

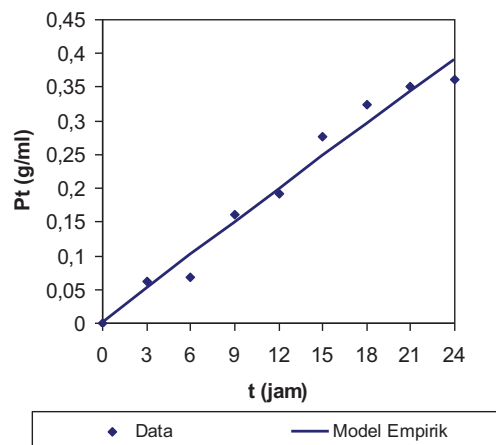
Berdasarkan model kinetika empirik yang dinyatakan dalam persamaan (1) dan profil data pada Tabel 4, maka diperoleh konstanta kecepatan reaksi empirik (k) sebesar  $0,000721 \text{ jam}^{-0,9845}$  dan tahanan hidrolisis (x) sebesar 0,9845, sehingga:

$$Pt/S_0 = 1 - \exp[-0,000721(t)^{0,9845}] \quad \dots (2)$$

dengan Pt dan  $S_0$  dalam g/ml dan t dalam jam. Profil konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan terhadap waktu, yang merupakan perbandingan antara data dan model empirik, disajikan pada Gambar 6.

**Tabel 4. Profil Konsentrasi Substrat dan Konsentrasi Produk (Gula Reduksi) yang Dihasilkan pada Berbagai Waktu**

Waktu (jam)	Kons. Substrat (g/ml)	Kons. Produk (g/ml)
0	23,9400	0
3	23,8841	0,0621
6	23,8794	0,0674
9	23,7950	0,1611
12	23,7665	0,1928
15	23,6905	0,2773
18	23,6477	0,3248
21	23,6240	0,3512
24	23,6156	0,3605



**Gambar 6. Perbandingan antara data konsentrasi gula reduksi terhadap waktu dengan model persamaan empirik ( $S_0 = 23,94 \text{ g/ml}$ )**

Dari persamaan (2), teramati bahwa nilai konstanta k cukup kecil. Hal ini mengindikasikan bahwa laju hidrolisis substrat berlangsung lambat, yang juga diperkuat oleh kecilnya konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Tahanan hidrolisis (x) menunjukkan besar kecilnya daya hambat proses hidrolisis enzimatik. Nilai tahanan hidrolisis dalam penelitian ini cukup besar, dikarenakan proses fermentasi hidrolisis substrat menjadi gula reduksi berlangsung melalui tahapan reaksi yang kompleks. Dengan memperhatikan nilai x yang diperoleh ( $x = 0,9845$ ), maka reaksi hidrolisis enzimatik ini mendekati model kinetika berorder satu.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil-hasil yang telah diuraikan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa sabut kelapa

dapat dihidrolisis secara enzimatis menghasilkan gula reduksi dengan menggunakan jamur *Trichoderma reesei*. Kondisi optimum percobaan dicapai pada pH 5, konsentrasi sabut kelapa 5 g/ml, dan konsentrasi inokulum 5 g/ml.

Model kinetika reaksi enzimatis yang sesuai dengan kondisi percobaan mempunyai bentuk empirik yang sesuai dengan model dari J. N. Eters (1980):  $Pt/S_0 = 1 - \exp[-0,000721(t)^{0,9845}]$ , dengan  $Pt$  dan  $S_0$  dalam g/ml dan  $t$  dalam jam.

#### Saran

Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan pada penelitian ini masih relatif sangat rendah, yaitu 0,8 g/ml. Hal ini diduga karena kurang efektifnya proses delignifikasi sabut kelapa yang dilakukan. Oleh karena itu, maka perlu dilakukan penelitian lanjut tentang proses delignifikasi sabut kelapa agar diperoleh konversi selulosa menjadi gula reduksi yang lebih baik.

#### Daftar Pustaka

- [1] En.wikipedia.org/wiki/cellulose
- [2] En.wikipedia.org/wiki/*Trichoderma reesei*
- [3] Hairong Xiong, 2004, "Production and Characterization of *Trichoderma reesei* and *Thermomyces Lanuginosus Xylanases*"; Lib.tkk.ti/Diss/2004/isbn9512273187/isbn 9512273187
- [4] [http://www.hayleys-export.com/about/coir fibre](http://www.hayleys-export.com/about/coir_fibre)
- [5] Jakobson, Eva-Lena, "Optimization of the pre-treatment of wheat straw for production of bioethanol," [www.chemeng.ith.se/exjobb/025.pdf](http://www.chemeng.ith.se/exjobb/025.pdf)
- [6] Kirk, R. E and Othmer, D. F, 1952 "Encyclopedia of Chemical Technology"; 2<sup>nd</sup> ed, John Wiley and Sons Inc, New York.
- [7] Qian Xiang et al, 2003, "Heterogeneous Aspect of Acid Hydrolysis of Cellulose"; *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 107 No 1-3, ISSN 0273-2289.
- [8] Sarkar, Ajoy. K, Eters, J. Nolan, 2004; "Enzymatic Hydrolysis of Cotton Fiber: Modeling Using Empirical Equation"; *The Journal of Cotton Science* 8: 254-260
- [9] Sasaki Mitsuru et. al., 2000, "Dissolution and Hydrolysis of Cellulose in Subcritical and Supercritical Water"; *Ind. Eng. Chem. Res.* 39(8), 2883-2890.
- [10] Sudarmadji, S, Haryono, B, dan Suhardi, 1990, "Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian", ed. 3, Liberty, Yogyakarta
- [11] Wang, J.Sh, Wang, J, and Gulfray, J.M, "Efficient Cellulase Production from Corn Straw by *Trichoderma reesei* LW1 through Solid State Fermentation Process"; [www.siu.edu/~ebf/leaflets/wang](http://www.siu.edu/~ebf/leaflets/wang)
- [12] Yue Z., Bin W., Baixu Y., and Peiji G., 2004, "Mechanism of Cellobiose Inhibition in Cellulobiohydrolase", *Sci. China Life Sci.*, 47(1): 18 -24